



PROF. DR HAB. MED. JOLANTA WALUSIAK-SKORUPA
DYREKTOR

Instytut Medycyny Pracy im.prof. Jerzego Nofera
91-348 Łódź, ul. Św. Teresy 8
<http://www.imp.lodz.pl>
tel.+ 48 42 631 45 02
mail: jolanta.walusiak-
skorupa@imp.lodz.pl

Łódź, dn. 12 listopada 2024

Recenzja rozprawy na stopień doktora
w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne

Lek. Rafała Kusaka

pt. „Narażenie środowiskowe na kadm a występowanie osteoporozy u kobiet po menopauzie z makroregionu łódzkiego”

Ekspozycja środowiskowa na ksenobiotyki, w tym metale, od wielu lat budzi niepokój obszaru zdrowia publicznego ze względu na liczne zagrożenia z nimi związane. W przypadku kadmu wiadomo m.in., że ekspozycja środowiska może prowadzić do wielu skutków zdrowotnych, spośród których osteoporoza uważana jest za jeden z kluczowych. W 1955 r., dr Hagino jako pierwszy opisał zespół itai-itai, rozpoznany u mieszkańców zatoki Jinzu River w Prefekturze Toyama w Japonii, narażonych na kadm w wyniku zanieczyszczenia wody i ryżu odpadami z huty cynku. Główną cechą zespołu i stąd nazwa „boli-boli” jest silny ból będący skutkiem osteomalacji. Objawy kliniczne występowały przede wszystkim u kobiet w wieku powyżej 40 lat, wieloródek, a skarżyły się na bóle stawów i kości, głównie kręgosłupa i kończyn dolnych, często występowała osteoporoza, odwapnienia i samoistne złamania kości. Od tego czasu przeprowadzono zaledwie kilkanaście badań, w tym tylko jedno w Polsce, z których wynika, potwierdzających związek osteoporozy ze środowiskową ekspozycją na kadm.

W związku z tym podjęcie przez Doktoranta tematu skutków środowiskowego narażenia na kadm (Cd) wydaje się szczególnie cenne, tym bardziej, że w objętym badaniem województwie łódzkim wskaźnik feminizacji jest najwyższy w Polsce, a więc również wyjątkowo wysokie zagrożenie osteoporozą.

Celem podjętego przez Doktoranta było:

1. zbadanie, czy u kobiet w wieku pomenopauzalnym zamieszkałych w makroregionie łódzkim przez minimum 15 lat, zgłaszających się do Poradni Leczenia Osteoporozy, narażonych środowiskowo na Cd istnieje korelacja między stężeniem Cd we krwi i w moczu a wskaźnikami metabolizmu kostnego i gospodarki mineralnej kości oraz gęstością mineralną kości udowej ocenianą przy pomocy techniki dwuenergetycznej absorpcjometrii rentgenowskiej podwójnej energii w porównaniu do kobiet, u których poziomy Cd nie przekraczają uznanych wartości referencyjnych dla populacji generalnej;

2. sprawdzenie czy istnieje zależność pomiędzy stężeniem Cd we krwi i moczu a stężeniem wybranych pierwiastków niezbędnych, odgrywających istotną rolę w gospodarce mineralnej kości, oznaczonych we krwi i w moczu.

Powyższym celom zostały przypisane zadania badawcze obejmujące szczegółowe oznaczenia następujących parametrów:

- stężenie Cd oraz pierwiastków niezbędnych (Ca, Zn, Cu, Mg) we krwi i moczu;
- badania dodatkowe: PTH, 1,25(OH)₂D₃, TSH, CRP;
- markery funkcji nerek: stężenie: kreatyniny, kwasu moczowego, albuminy, eGFR;
- markery obrotu kostnego takie jak: fosfataza alkaliczna (ALP), jej frakcja kostna (BALP), osteokalcyna (OC), krzyżowo związany N-końcowym telopeptyd kolagenu I (NTx), dezoksyperydynolina (DYP), kwaśna fosfataza oporna na winian (TRAP), Ca całkowity;
- badanie gęstości mineralnej kości udowej przy pomocy techniki DXA;
- oszacowanie 10-letniego ryzyka złamań z wykorzystaniem opracowanego przez WHO modelu FRAX.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej o projekcie Eksperymentu Medycznego Nr RNN/173/19KE.

Przedstawiona rozprawa zawiera łącznie 143 stron maszynopisu (w tym 21 tabel, 24 ryciny oraz 4 załączniki). Układ pracy jest typowy, o zachowanych proporcjach, składa się ze wstępu, założeń i celu badań, materiału i metod, z opisem badanej populacji, metod badawczych, a dalej prezentacji wyników, szczegółowego omówienia wyników analizy statystycznej, dyskusji oraz wniosków. Pracę kończy wykaz piśmiennictwa obejmujący 236 pozycje, głównie anglojęzycznego, głównie z ostatnich lat – co jest szczególnie cenne w przypadku tak historycznego tematu - prawidłowo dobranego.

Bardzo interesujący wstęp pozwala na usystematyzowanie faktów dotyczących zagadnień będących przedmiotem rozprawy – rozpoczyna się od danych na temat osteoporozy, następnie toksykologii kadmu, w sposób niezwykle logiczny wprowadza w sprecyzowany cel pracy. Pochwalić należy bardzo szczegółową analizę piśmiennictwa, co zaowocowało powstaniem tabel omawiających szczegółowo inne badania opublikowane w ostatnich latach, np. tabela 3.

Grupa badana została wybrana w wysoce przemyślany sposób – były to kobiety zamieszkujące co najmniej 15 lat makroregion łódzki, wybrany jako jeden z najbardziej uprzemysłowionych oraz ze względu na wysoki standaryzowany współczynnik chorobowości rejestrowanej (na osteoporozę) na 100 tyś. osób powyżej 50 roku życia.

Tak więc badaniem objęto 100 kobiet w wieku od 22 do 78 lat, które zgłosiły się do Poradni Leczenia Osteoporozy oraz zrekrutowane z ogłoszenia umieszczonego na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Dodatkowo uwzględniono grupę kobiet narażonych na ten metal w przedziale wiekowym od 22 do 40 lat w celu porównania z grupą referencyjną. Doktorant opisuje szczegółowo kryteria włączenia do badania oraz kryteria wyłączenia. Patrząc na kryteria wyłączenia, z których jedno to zawodowe narażenie na kadm, zastanawiam się tylko, czy rzeczywiście pacjentki były w stanie tak dokładnie określić swoje narażenie zawodowe, czy po prostu dla pewności nie włączano osób zatrudnionych w zakładach produkcyjnych.

Uzyskane wyniki badań Doktorant zaprezentowała w sposób bardzo szczegółowy, w dobrze przygotowanych tabelach, a następnie przeprowadził analizę statystyczną, z wykorzystaniem programu Statistica 13.3 i takich testów jak: test Shapiro-Wilka, test t-Studenta dla prób niezależnych (względem grup), test U Manna-Whitneya, test istotności Spearmana dla zmiennych jakościowych, test c2 z poprawką Yatesa oraz test dokładny A. Fishera. Należy podkreślić staranność z jaką przeprowadzono i opisaną przeprowadzone analizy.

Dyskusja, podobnie jak wstęp pracy, przeprowadzona jest w sposób uporządkowany i logiczny, świadczący o dużej wiedzy Autora na temat poruszanych zagadnieniach. Doktorant porównuje uzyskane przez siebie wyniki z innymi badaniami, w tym szczegółowo odnosi się do wcześniejszego polskiego badania przeprowadzono przez dr Trzcinę-Ochocką, zwracając uwagę brak potwierdzenia w tym badaniu związku pomiędzy stężeniem kadmu w moczu a gęstością mineralną kości. Tym samym badanie Doktoranta jest pierwszym w polskiej populacji, w którym w tak wyczerpujący sposób przeanalizowano zagadnienia związane z osteoporozą, uwzględniając densytometrię, biomarkery resorpcji kości i markery kościotworzenia.

Na podstawie uzyskanych wyników Doktorant sformułował szereg wniosków, tj.:

1. Średnie stężenia Cd w moczu u badanych kobiet zamieszkujących makroregion łódzki były blisko dwukrotnie wyższe od wartości stężeń dla populacji generalnej w Polsce oraz stężenia referencyjnego uznanego za bezpieczne dla populacji generalnej, co potwierdza, że makroregion łódzki należy do rejonów najbardziej zanieczyszczonych kadmem w Polsce;
2. u kobiet po menopauzie ze stężeniami Cd w moczu $\geq 0,5 \mu\text{g/g}$ kreatyniny, stwierdzono istotnie niższe wartości gęstości mineralnej kości oraz obniżony wynik densytometryczny (wskaźnik *T*-score), co znajduje odzwierciedlenie we współczynnikach korelacji pomiędzy badanymi parametrami a stężeniem Cd w moczu;
3. ponadto, w tej grupie kobiet odnotowano blisko dwukrotnie wyższe 10-letnie ryzyko złamań (FRAX) w porównaniu z grupą kobiet o niższym stężeniu Cd w moczu (40,63% vs. 23,08%);
4. wykazana w badaniach istotna zależność między krzyżowo związanym N-końcowym telopeptydem kolagenu I (NTx) i dezoksyperydynoliną (DYP) a stężeniem Cd w moczu, głównie u kobiet po menopauzie wskazuje na zwiększoną resorpcję kości pod wpływem Cd;
5. wraz ze wzrostem stężenia Cd w moczu obserwowano istotny wzrost wartości markerów kościotworzenia, tj. osteokalcyny (OC), fosfatazy alkalicznej (ALP), kostnej frakcji fosfatazy alkalicznej (BALP), co może świadczyć o działaniu kompensacyjnym w odpowiedzi na przyspieszoną resorpcję kości;
6. istotna zależność między stężeniem Cd w moczu a badanymi biomarkerami resorpcji kości tj. NTx i DYP może sugerować ich użyteczność przy diagnozowaniu osteoporozy indukowanej Cd;
7. narażenie na Cd przyczyniało się do zaburzenia funkcji nerek u badanych kobiet, o czym świadczy istotna negatywna zależność między wskaźnikiem filtracji kłębuszkowej (eGFR) a stężeniem Cd w moczu i we krwi.

Mogę jedynie zauważyć, że niektóre z tych wniosków, bądź ich fragmenty mają charakter podsumowania wyników, więc może należało rozważyć wyodrębnienie takiej części, choć z drugiej strony, w niektórych z powyższych wniosków zestawienie wyniku bezpośrednio z wnioskiem pokazuje logiczne rozumowanie Doktoranta i pełne zrozumienie prowadzonych badań.

Doktorant nie uniknął pewnych błędów interpunkcyjnych i edytorskich. W streszczeniu nie wyodrębniono części „Wyniki”, co wprowadziło w połączeniu z faktem, że główne wyniki są właściwie zawarte we wnioskach, może należałoby zmienić nazwę tej części. Uwagi te nie rzutują jednak, zdaniem recenzenta, na pozytywną ocenę dysertacji stanowiącą oryginalne rozwiązanie ważnego problemu naukowego i wykorzystanie w tym celu wszelkich dostępnych danych.

Podjęcie istotnej tematyki badawczej, oryginalność koncepcji, zakres pracy wykonanej przez Doktoranta, Jego wiedza z dziedziny, którą wykazała na każdym etapie prowadzonego badania, doborze literatury oraz umiejętność posługiwania się warsztatem badawczo-naukowym pokazują, że niniejsza rozprawa stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.

Tym samym stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny **rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce** (Dz. U. 2021 poz. 478 ze zm.) i **wystąpienia do Wysokiej Rady Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lekarza Rafała Kusaka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Z poważaniem

Prof. dr hab. med. Jolanta Walusiak-Skorupa